



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

JULIANA CARDOSO ALVES

**DETECÇÃO DE TROMBOEMBOLISMO VENOSO E DE NÍVEIS ELEVADOS DE
DÍMERO D EM PACIENTES INFECTADOS PELOS VÍRUS *Zika* E *Chikungunya***

ARACAJU/SE

2019

JULIANA CARDOSO ALVES

**DETECÇÃO DE TROMBOEMBOLISMO VENOSO E DE NÍVEIS ELEVADOS DE
DÍMERO D EM PACIENTES INFECTADOS PELOS VÍRUS *Zika* E *Chikungunya***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Roque Pacheco de Almeida

Coorientador: Dr. Cliomar Alves dos Santos

**ARACAJU/SE
2019**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

A474d Alves, Juliana Cardoso
Detecção de tromboembolismo venoso e de níveis elevados de
Dímero D em pacientes infectados pelos vírus Zika e Chikungunya
/ Juliana Cardoso Alves ; orientador Roque Pacheco de Almeida ;
coorientador Cliomar Alves dos Santos. – Aracaju, 2019.
55 f.

Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade
Federal de Sergipe, 2019.

1. Zika vírus. 2. Vírus Chikungunya. 3. Tromboembolia Venosa.
I. Almeida, Roque Pacheco de, orient. II. Santos, Cliomar Alves dos,
coorient. III. Título.

CDU 61

JULIANA CARDOSO ALVES

**DETECÇÃO DE TROMBOEMBOLISMO VENOSO E DE NÍVEIS ELEVADOS DE
DÍMERO D EM PACIENTES INFECTADOS PELOS VÍRUS *Zika* E *Chikungunya***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: 01/02/2019

Orientador: Dr. Roque Pacheco de Almeida

1º Examinador: Dr. Marco Antônio Prado Nunes

2º Examinador: Dra. Viviane Correia Campos Almeida

**ARACAJU/SE
2019**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu filho, Guilherme Alves Menezes, o qual enche meus dias de alegria e me faz aprender que a felicidade está nas pequenas conquistas diárias.

AGRADECIMENTOS

Mais uma etapa em minha vida está sendo concluída! Uma jornada de dois anos de muito aprendizado, de dúvidas, acertos e erros que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a Deus por nunca me abandonar, principalmente, nos momentos mais difíceis e sempre permitir um novo amanhecer para seguir em frente.

Ao meu filho, Guilherme Menezes, por ser sempre a minha força para seguir lutando e pelos ensinamentos que a sua chegada proporcionou em minha vida.

Aos meus pais, Eliana Alves e Manuel Cardoso, por toda a ajuda diária e por cuidarem tão bem do nosso pequeno! Sem o alicerce que vocês construíram, essa conquista não seria possível.

À minha irmã, Viviane Alves, que sempre está disposta a me ouvir e me ajudar sem hesitar.

Ao meu esposo, Michell Menezes, por todo o suporte, companheirismo e entendimento ao longo dessa caminhada.

Às minhas avós, tios, tias, cunhados (as), sogro (a) por toda a torcida e incentivo.

Ao meu orientador, prof. Roque Pacheco, pela oportunidade e confiança para fazer parte do seu grupo de pesquisa no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular e por todas as orientações concedidas nesse tempo.

À profa. Amélia Ribeiro pela sua serenidade, transmitindo sempre tranquilidade, além de suas opiniões pertinentes para a melhoria dos trabalhos.

Aos colaboradores Eduardo Ramacciotti, Leandro Agati e Valeria Aguiar (Hospital e Maternidade Dr. Christovão da Gama – SP), Nelson Wolosker e João Carlos Guerra (Hospital Israelita Albert Einstein – SP), Renato Lopes (Hospital Universitário Duke – EUA), Thomas Wakefield (Universidade de Michigan – EUA), Anthony Comerota (Centro Médico St. Vicent – EUA), Jeanine Walenga e Jawed Fareed (Centro Médico da Universidade de Loyola – EUA) pelas contribuições científicas e pelo apoio concedido para a execução desse estudo.

A todos dos laboratórios de biologia molecular e de imunologia do LACEN-SE pela grande contribuição para o desenvolvimento desse projeto, em especial, a Cliomar Alves, Lizandra Carvalho, Renata Dutra, Josué e Neuzilene que nunca mediram esforços para me ajudar.

Às companheiras de projeto, Camilla Natália e Danielle Ribeiro, pela convivência e pela troca de experiência ao longo dessa jornada.

Às médicas Ângela Silva, Alejandra Debbo e Regina Adalva que contribuíram no recrutamento dos pacientes utilizados nesse estudo.

Aos professores Nalu Peres e Rodrigo Cazzaniga por todos os ensinamentos compartilhados.

À professora Tatiana Moura por todo apoio e incentivo de sempre!

Aos colegas de laboratório, Lucas Magalhães, Aline Barreto, Lays Gisele, Mônica Rueda, Tiago Nunes, Mônica Rebouças, Betânia de Góis, Ricardo Louzada, Cristiane Bani, Priscila Lima e Laís Oliveira, pela convivência diária e pela disponibilidade em sempre ajudar.

Aos pacientes que se disponibilizaram para a realização desse estudo!

À amiga Paulina Marques por estar disposta a me ouvir nos momentos de desespero e sempre me fazer enxergar que sou capaz.

À CAPES, FINEP e UFS pelo suporte financeiro e material.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui.

RESUMO

Introdução: As arboviroses são doenças de etiologia viral transmitidas aos hospedeiros através de artrópodes hematófagos. Entre essas arboviroses, destacam-se atualmente as infecções pelos vírus *Zika* (ZIKV) e *Chikungunya* (CHIKV), as quais podem ser assintomáticas ou apresentarem quadros clínicos variados desde sintomas leves a graves, como os distúrbios neurológicos, a exemplo da Síndrome de Guillain-Barré e a Síndrome Congênita do Zika vírus. Foram relatados também alguns casos de complicações relacionadas aos distúrbios da coagulação. Até o momento, o acometimento vascular desencadeado pelas infecções causadas pelos ZIKV e CHIKV é pouco descrito. **Objetivo:** Descrever 2 casos de trombose venosa profunda (TVP) associados ao ZIKV e avaliar os níveis séricos do dímero D em pacientes infectados pelos vírus ZIKV e CHIKV. **Metodologia:** Trata-se de um estudo descritivo onde foram relatados 2 casos de TVP associados ao ZIKV, um proveniente do Hospital Universitário de Sergipe e o outro do Hospital Universitário da Paraíba. Além disso, foram utilizadas amostras de plasmas de 172 indivíduos infectados pelos ZIKV (31) e CHIKV (141), oriundos dos serviços ofertados pelo Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, dos quais foram coletadas informações clínico-epidemiológicas através de questionário e em suas amostras foram realizados o diagnóstico molecular pela técnica da transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real e a dosagem do dímero D por ensaio imunoenzimático (ELISA). **Resultados:** Os indivíduos infectados pelos ZIKV e CHIKV tinham idade média de $37,5 \pm 13,35$ anos e $41,8 \pm 17,3$, respectivamente. O gênero mais afetado foi o masculino (64%) pelo ZIKV e o feminino (86,8%) pelo CHIKV. Os níveis de dímero D foram aumentados em relação ao valor de referência ($0,5 \mu\text{g/mL}$) em 19,35% dos 31 indivíduos positivos para o ZIKV e em 63,83% dos 141 indivíduos positivos para CHIKV. **Conclusão:** Este estudo descreve pela primeira vez níveis elevados de dímero D em pessoas infectadas pelos ZIKV e CHIKV, fornecendo dados relevantes para a comunidade científica sobre a possibilidade da associação desses arbovírus e o desenvolvimento do tromboembolismo venoso (TEV).

Palavras-chave: Zika vírus, Vírus Chikungunya, Tromboembolia Venosa.

ABSTRACT

Introduction: Arboviruses are diseases of viral etiology transmitted to hosts through hematophagous arthropods. Of great importance, the viruses infection *Zika* (ZIKV) and *Chikungunya* (CHIKV) may be asymptomatic or present with symptoms that range from mild to severe neurological disorders, such as Guillain-Barré Syndrome and Congenital Syndrome of the Zika virus. There is also cases reports describing coagulation disorders. To date, the vascular involvement triggered by the infections caused by ZIKV and CHIKV is poorly described. **Objective:** To describe 2 cases of deep venous thrombosis (DVT) associated with ZIKV and to evaluate serum D-dimer levels in patients infected with ZIKV and CHIKV virus. **Methodology:** This is a descriptive study, where 2 cases of DVT associated with ZIKV were reported, one from the University Hospital of Sergipe and the other from the University Hospital of Paraíba. In addition, plasma samples from 172 individuals infected by ZIKV (31) and CHIKV (141) were used, from the services offered by the University Hospital of the Federal University of Sergipe, from which clinical-epidemiological information was collected through a questionnaire, molecular diagnosis using real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and D-dimer dosing by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Individuals infected with ZIKV and CHIKV had a mean age of 37.5 ± 13.35 years and 41.8 ± 17.3 , respectively. The most affected gender was male (64%) by ZIKV and female (86.8%) by CHIKV. D-dimer levels were increased in 19.35% of the 31 ZIKV-positive individuals and in 63.83% of the 141 CHIKV-positive individuals. **Conclusion:** This study describes for the first time high levels of D-dimer in people infected with ZIKV and CHIKV, providing data relevant to the scientific community about the possibility of the association of these arboviruses and the development of venous thromboembolism (VTE).

Keywords: Zika Virus, Chikungunya virus, Venous Thromboembolism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Casos prováveis de dengue, chikungunya e zika por mês de início de sintomas, 2016, Sergipe.....	18
Figura 2: Modelo de coagulação baseado em superfícies celulares compreendendo as fases de iniciação, amplificação e propagação.....	23
Figura 3: Algoritmo para diagnóstico de TVP ou TEP usando dímero D.....	28
Figura 4: Mulher de 46 anos, com infecção pelo ZIKV e com trombose venosa profunda.....	34
Figura 5: Mulher, caucasiana, 53 anos, com ZIKV e trombose venosa profunda do membro inferior esquerdo.....	35
Figura 6: Níveis de dímero D.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Sequências de oligonucleotídeos utilizadas para detecção dos vírus <i>Zika</i> e <i>Chikungunya</i>	33
Tabela 2: Características clínicas de indivíduos com suspeita de tromboembolismo venoso.....	35
Tabela 3: Características demográficas e clínicas de indivíduos infectados pelos ZIKV e CHIKV.....	36

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Comparação entre os sinais e sintomas ocasionados pela infecção pelos vírus <i>Dengue</i> , <i>Chikungunya</i> e <i>Zika</i>	18
Quadro 2: Fatores clínicos de risco para o TEV.....	27
Quadro 3: Escore de Wells. Modelo clínico para prever a probabilidade de pré-teste de trombose venosa profunda.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADAMTS 13: *A Disintegrin And Metalloprotease with eight Thrombospondin-1-like 13*

AT: Antitrombina

AVK: Antagonista da Vitamina K

CCL: *Chemokine Ligands* (Ligante de Quimiocina)

CD: *Cluster* de Diferenciação

CHIKV: vírus *Chikungunya*

CIVD: Coagulação Intravascular Disseminada

CMV: Citomegalovírus

DENV: Vírus *Dengue*

ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assays* (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)

FEU: Unidades Equivalentes de Fibrinogênio

FT: Fator Tecidual

HHV-6: *Human herpesvirus- 6* (Vírus Herpes Humano-6)

HHV-8: *Human herpesvirus- 8* (Vírus Herpes Humano-8)

HIV: *Human Immunodeficiency Virus* (Vírus da Imunodeficiência Humana)

HTLV-1: *Human T lymphotropic virus* (Vírus Linfotrópico da Célula T humana)

ICAM: *Intercellular Adhesion Molecule* (Molécula de Adesão Intercelular)

IL: Interleucina

IV: Intravenoso

OROV: Vírus *Oropouche*

PAF: *Platelet-Activating Factor* (Fator Ativador de Plaquetas)

PAMP: Padrão Molecular Associado à Patógenos

PC: Proteína C

PDFs: Produtos de degradação da fibrina

PICC: *peripherally inserted central cateter* (Cateter Central de Inserção Periférica)

PRR: Receptor de Reconhecimento Padrão

PTT: Púrpura Trombocitopênica Trombótica

RT-PCR: *Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction* (Transcrição Reversa da Reação em Cadeia da Polimerase)

SGB: Síndrome Guillain-Barré

SHU: Síndrome Hemolítica-Urêmica

TEP: Tromboembolismo pulmonar

TFPI: *Tissue factor pathway inhibitor* (Inibidor da Via do Fator Tecidual)

TNF- α : Fator de Necrose Tumoral- α

tPA: Ativador de Plasminogênio Tecidual

TREM: *Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells*

TVP: Tromboembolismo Venoso Profundo

uPA: Ativador de Plasminogênio Uroquinase

VCAM: *Vascular Cell Adhesion Molecule* (Molécula de Adesão Celular Vascular)

ZIKV: Vírus *Zika*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Arbovírus.....	17
2.2 Vírus <i>Zika</i>	19
2.3 Vírus <i>Chikungunya</i>	20
2.4 Hemostasia: mecanismo geral.....	21
2.5 Inflamação e coagulação sanguínea.....	23
2.6 Infecções virais e coagulação sanguínea.....	25
2.7 Diagnóstico de tromboembolismo venoso e o Dímero D.....	26
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Geral.....	29
4 DESENHO DO ESTUDO.....	30
5 MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1 População de estudo e aspectos éticos.....	31
5.2 Coleta de dados.....	31
5.3 Coleta de material biológico.....	32
5.4 Diagnóstico molecular.....	32
5.5 Dosagem do dímero D	33
5.6 Análise estatística.....	33
6 RESULTADOS	34
6.1 Relato dos casos de trombose venosa profunda (TVP).	34
6.2 Características demográficas e clínicas de pacientes com diagnósticos de ZIKV e CHIKV	35
6.3 Dosagem do dímero D.....	36
7 DISCUSSÃO	38
8 CONCLUSÃO.....	41
9 PERSPECTIVAS.....	42
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXOS A - Parecer do comitê de ética	50
ANEXO B - Questionário Arboviroses.....	53
ANEXO C – Artigo.....	55

1 INTRODUÇÃO

As arboviroses são doenças infecciosas em que os vírus são transmitidos por artrópodes hematófagos para seres humanos e alguns animais, onde parte de seu ciclo replicativo ocorre em insetos (RUST, 2012). Os arbovírus representam uma séria ameaça à saúde pública mundial principalmente em países tropicais e subtropicais devido as condições climáticas favoráveis que ajudam na proliferação dos vetores dessas doenças (MOTA et al., 2016).

As doenças causadas por arbovírus apresentam um amplo espectro de manifestações clínicas que variam de infecções assintomática (75% na dengue, entre 3 e 25% na chikungunya e em até 80% na zika) ou com quadros de sintomatologia inespecífica com febre, artrite ou artralgia, conjuntivite, exantema e dor retro-orbitária (DUFFY et al., 2009), até casos em que ocorrem complicações neurológicas como a Síndrome Congênita do Zika vírus, caracterizada por defeitos congênitos encontrados em fetos e bebês que foram infectados por esse vírus durante o período gestacional (FRANÇA et al., 2016), Síndrome de Guillain-Barré (SGB), encefalites e neuropatias periféricas que podem ser causadas tanto pelo vírus *Zika* (ZIKV) quanto pelo vírus *Chikungunya* (CHIKV) (DAGINAWALA et al., 2009; KEESEN et al., 2017).

Além disso, essas infecções virais também estão sendo relatadas em associação aos distúrbios da hemostasia e coagulação (ALMEIDA et al., 2018; BIDAUD et al., 2017; STAPLES; BREIMAN; POWERS, 2009). A hemostasia é um processo fisiológico que consiste em uma série de eventos integrados com o objetivo de evitar hemorragias, a partir de uma lesão vascular resultando na formação de coágulos (trombos) (REZENDE, 2010). Várias infecções virais, principalmente as causadas pelos vírus HIV (MALAK et al., 2008), HTLV-1, hepatite C, os vírus da família *Herpesviridae* (varicela-zóster, citomegalovírus (CMV), HHV-6 e HHV-8), Parvovírus B19, Adenovírus, *Influenza A* (DIAS; GOPAL, 2009) e o arbovírus *Dengue* (ROSSI et al., 2010) podem alterar o processo da hemostasia, ocasionando o desenvolvimento de condições clínicas como a coagulação intravascular disseminada (CIVD), síndrome hemolítica-urêmica (SHU), púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), hemorragias e tromboembolismo venoso (TEV) (CATE et al., 1999; GOEIJENBIER et al., 2012; LOPES, 2011).

O TEV é um termo utilizado para designar um espectro de doenças que inclui a trombose venosa profunda (TVP) e o tromboembolismo pulmonar (TEP) (FUKUJIMA et al., 2009) sendo classificado como a terceira causa mais comum de mortes por problemas cardiovasculares no mundo atrás apenas das isquemias miocárdicas e acidentes vasculares cerebrais (HEIT, 2008).

Recentemente, foi relatado um caso de TVP como possibilidade de complicação vascular em um indivíduo infectado pelo CHIKV (MARQUES, et al., 2017). Entretanto, até o momento, o conhecimento sobre acometimento vascular desencadeado pelas infecções causadas pelos ZIKV e CHIKV é pouco descrito e caracterizado pelos relatos dos casos. Diante disso, esse estudo descreveu 2 casos clínicos de TVP associados ao ZIKV nos hospitais universitários da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e a quantificação do dímero D em indivíduos infectados pelos ZIKV e CHIKV.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Arbovírus

Os arbovírus são transmitidos de um hospedeiro vertebrado infectado para outro através da picada de vetores artrópodes hematófagos que adquirem os vírus durante a alimentação. Após a picada do mosquito infectado na pele, a replicação viral local representa um evento chave da infecção seguido da disseminação rápida para o sangue e para os tecidos. As interações resultantes entre os fatores derivados dos mosquitos e os fatores relacionados aos hospedeiros contribuem para a determinação da gravidade da infecção (PINGEN et al., 2016; SCHMID et al., 2016).

Estima-se que mais de 545 espécies de arbovírus já foram identificadas, das quais aproximadamente 150 espécies são causadoras de doenças em humanos (CLETON et al., 2012). Entre os arbovírus que estão envolvidos em doenças humanas, destacam-se os pertencentes as famílias *Togaviridae* (CHIKV), *Flaviviridae* (DENV e ZIKV) e *Bunyaviridae* (*Oropouche* - OROV) (FORSHEY et al., 2010). No Brasil, três arboviroses transmitidas principalmente por mosquitos do gênero *Aedes* (*Aedes aegypti*) ganharam destaque no cenário nacional, as causadas pelos vírus *Dengue*, *Zika* (*Flavivirus*) e *Chikungunya* (*Alphavirus*) (LIMA-CAMARA, 2016) pelo elevado número de casos notificados e das complicações clínicas desencadeadas pelas infecções.

Em 2016, foram notificados 1.483.623 casos prováveis de dengue, 277.882 casos de chikungunya e 216.207 casos de zika em todo o país (BRASIL, 2018). Em Sergipe, no mesmo período, o estado compartilhou a mesma situação do aumento de casos das arboviroses causadas pelo ZIKV e CHIKV do país, apresentando 3.449 casos prováveis de pessoas infectadas pelo vírus *Dengue* (DENV), 8.315 casos de infecções pelo CHIKV e 221 casos prováveis de infecções pelo ZIKV (SERGIPE, 2017) (Figura 1).

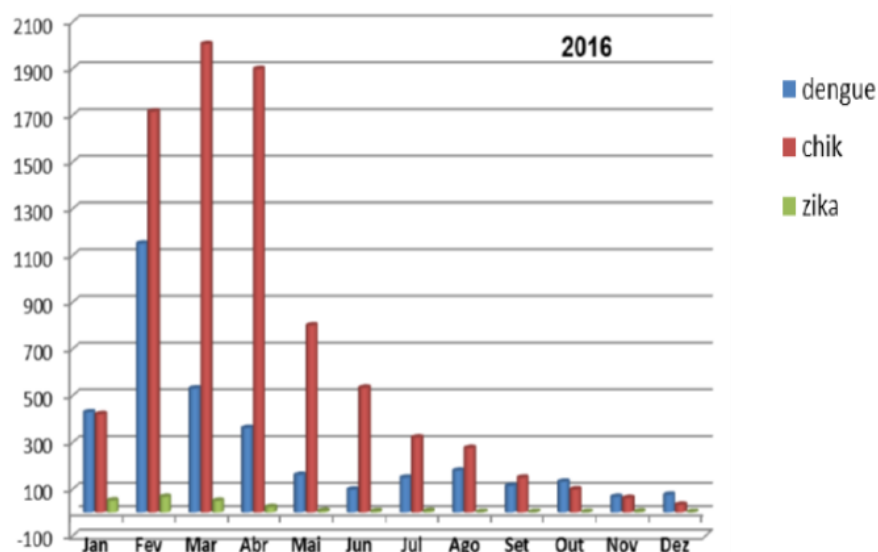


Figura 1: Casos prováveis de dengue, chikungunya e zika por mês de início de sintomas, 2016, Sergipe. (SERGIPE, 2017).

A distribuição geográfica, os hospedeiros vertebrados e os vetores de transmissão desses vírus, bem como as manifestações clínicas das infecções humanas (Quadro 1), muitas vezes se sobrepõem, desafiando o diagnóstico diferencial dessas arboviroses (BARZON, 2018), principalmente em áreas que ocorre a circulação de vários arbovírus ao mesmo tempo. Casos de confirmações por coinfeções entre os ZIKV, CHIKV e DENV já têm sido relatados na literatura (PHOMMANIVONG et al., 2016; NAYAR et al., 2007; WAGGONER et al., 2016; PRATA-BARBOSA et al., 2018).

Sinais e sintomas	Dengue	Chikungunya	Zika
Febre	++++	+++	++++
Mialgia/ artralgia	+++	++++	++
Edema de extremidades	0	0	++
Exantema maculopapular	++	++	+++
Dor retroorbital	++	+	++
Hiperemia conjutival	0	+	+++
Linfadenopatia	++	++	+
Hepatomegalia	0	+++	0
Leucopenia/ trombocitopenia	+++	+++	0
Hemorragia	+	0	0

Quadro 1: Comparação entre os sinais e sintomas ocasionados pela infecção pelos vírus *Dengue*, *Chikungunya* e *Zika*. Dado extraído e adaptado (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2015).

O diagnóstico laboratorial diferencial mais confiável é feito pela técnica de biologia molecular: Transcrição Reversa da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (RT-PCR em tempo real). Essa técnica detecta o material genético viral (RNA) circulante nos fluidos biológicos (soro, urina, líquido, sêmen, saliva) com alta sensibilidade e especificidade principalmente por distinguir os flavivírus ZIKV e DENV que devido à similaridade estrutural apresentada por eles, pode resultar em reatividade cruzada dos anticorpos em testes sorológicos desenvolvidos até o momento (PRIYAMVADA et al., 2016; MANSFIELD et al., 2011).

Nos últimos anos ocorreu uma expansão considerável na distribuição geográfica das arboviroses tornando exposta à infecção grande parte da população mundial. Acredita-se que a exposição aos arbovírus deve aumentar como consequência do desmatamento em áreas florestais, do movimento migratório, das ocupações urbanas desordenadas, das péssimas condições de saneamento básico apresentadas em diversas regiões do país além das constantes modificações climáticas em andamento, propiciando a disseminação viral (MOTA et al., 2016; MARTINA et al., 2017).

2.2 Vírus Zika (ZIKV)

O ZIKV é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, composto por 3 proteínas estruturais (capsídeo, membrana e proteína do envelope) e 7 proteínas não-estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5). É transmitido principalmente pelo vetor *Aedes aegypti*, ocorrendo também a possibilidade de transmissão pela via sexual (MOREIRA et al., 2017), por transfusão sanguínea e vertical. Foi inicialmente isolado em macacos *Rhesus* na África, mais precisamente em Uganda, no ano de 1947 e a análise filogenética identificou três linhagens para o ZIKV: os genótipos do leste africano, do oeste africano e o asiático (FAYE et al., 2014).

Por décadas esse vírus permaneceu na África e na Ásia causando epidemias locais caracterizadas por doenças leves e autolimitadas. Nos últimos anos, o vírus da linhagem asiática começou a causar epidemias na Micronésia (2007), nas ilhas do Pacífico (2013/2014) e nas Américas nos anos 2015 e 2016 (PETERSEN et al., 2016).

A infecção pelo ZIKV tem um período de incubação que pode variar de 3 a 12 dias e os pacientes, geralmente, apresentam uma doença branda e autolimitada, com duração próxima a uma semana (BURKE et al., 2016). Embora a doença tenha uma tendência a evoluir de forma

favorável, há relatos de complicações neurológicas tardias, provavelmente imunomediadas, como a síndrome de Guillain-Barré (SGB), relatada tanto nos surtos ocorridos na Polinésia Francesa como nas epidemias no nordeste do Brasil (ZANLUCA et al., 2015).

A SGB é uma desordem neurológica causada por uma ativação exacerbada do sistema imunológico que resulta em danos no sistema nervoso periférico (WILLISON; JACOBS; VAN DOORN, 2016). Os mecanismos moleculares do ZIKV envolvidos na patogênese da SGB ainda não estão completamente elucidados. Uma hipótese considerada é que proteínas do ZIKV compartilham peptídeos com proteínas humanas, que quando alteradas estão em associação com SGB, ou seja, a infecção por ZIKV pode reagir de forma cruzada com algumas proteínas do sistema nervoso contribuindo assim com as sequelas associadas ao ZIKV (LUCCHESI; KANDUC, 2016).

Ainda, há a implicação da infecção pelo ZIKV em gestantes na ocorrência de microcefalia em recém-nascidos. Esta hipótese foi levantada após a detecção do aumento inesperado no número de casos de microcefalia, inicialmente em Pernambuco e posteriormente em outros estados da região Nordeste do Brasil, a partir do ano de 2015. Em novembro de 2015, o Ministério da Saúde confirmou a relação entre a infecção pelo ZIKV e a ocorrência de microcefalia após a identificação do vírus por pesquisadores do Instituto Evandro Chagas (IEC) em amostras de sangue e tecidos de um recém-nascido no Ceará que apresentava microcefalia e outras malformações congênitas (TEIXEIRA *et al.*, 2016).

As complicações clínicas relacionadas a infecção pelo ZIKV e as desordens do processo de coagulação descritas até o momento, consistem em casos com severas trombocitopenias associados ou não a quadros hemorrágicos (KARIMI et al., 2016; SHARP et al., 2016; WU et al., 2017; ZEA-VERA; PARRA, 2016;). Na Colômbia, quatro indivíduos com RT-PCR positivos para o ZIKV apresentaram quadros hemorrágicos que evoluíram com desfechos fatais, incluindo uma menina de 2 anos de idade que além do quadro febril, também apresentou hepatomegalia, hemorragia da mucosa, trombocitopenia, desconforto respiratório, coagulação intravascular disseminada e choque (SARMIENTO-OSPINA et al., 2016).

2.3 Vírus *Chikungunya* (CHIKV)

O CHIKV é um *Alphavirus*, pertencente à família *Togaviridae* e seu genoma codifica quatro proteínas não-estruturais (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4) e cinco proteínas estruturais (capsídeo, E3, E2, 6K e E1). Foi isolado pela primeira vez na Tanzânia em 1952 e causou vários surtos na África, Índia, sudeste asiático e na polinésia (STAPLES; BREIMAN; POWERS,

2009). Os genótipos desse vírus são classificados em Asiático, do Leste-Centro-Sul Africano (ECSA) e do Oeste Africano de acordo com análises filogenéticas feitas nessas regiões (STRAUSS; STRAUSS, 1994; WAHID et al., 2017). No Brasil, em 2014, foram constatados os primeiros casos de transmissão autóctone, no Oiapoque, estado do Amazonas e em Feira de Santana no estado da Bahia (NUNES et al., 2015).

A sintomatologia desenvolvida pela maioria dos infectados pelo CHIKV ocorre após um período de incubação que varia de 4 a 7 dias e envolve febre, mialgia, artralgia acompanhada ou não de edema, artrite, erupções cutâneas e cefaleia. Enquanto os sintomas tendem a desaparecer por volta de uma semana, em 30-40% dos casos há a persistência de poliartrites por até 3 meses, quando fica caracterizada a fase subaguda da doença ou até mesmo por alguns anos, quando ocorre a cronicidade da mesma, principalmente em pessoas com idade mais avançada (SCHWARTZ; ALBERT, 2010).

As complicações neurológicas como mielorradiculopatias, meningoencefalites, e SGB também têm sido associadas às infecções causadas pelo CHIKV (BORGHERINI et al., 2007; DAGINAWALA et al., 2009; KEESEN et al., 2017; KHOURY; CAMILO, 2016), assim como coagulopatias, em que os pacientes desenvolveram necrose e falência de vários órgãos (CASTRO et al., 2015), púrpura trombocitopênica trombótica (BIDAUD et al., 2017) e trombose venosa profunda (TVP) (MARQUES et al., 2017).

2.4 Hemostasia: mecanismo geral

A hemostasia tem o objetivo de interromper sangramentos provocados por lesões estruturais no endotélio devido à presença de um agente agressor como os patógenos que ocasionam liberação de citocinas inflamatórias. Classicamente, é dividida em três etapas: hemostasia primária, hemostasia secundária e fibrinólise (FRANCO, 2001; FOLEY; CONWAY, 2016).

A hemostasia primária engloba componentes do endotélio vascular, plaquetas e o fator de von Willebrand. Após a lesão vascular, ocorre a adesão das plaquetas ao endotélio mediada pelo fator de von Willebrand com o suporte da metaloprotease ADAMTS 13 (cliva o fator de von Willebrand), a agregação, ativação, liberação dos grânulos e mudanças morfológicas para a formação do tampão plaquetário transitório (DAHLBA, 2005).

A hemostasia secundária envolve as proteínas da coagulação e é iniciada a partir da exposição do fator tecidual (FT) ao meio intravascular (via extrínseca) onde atua como receptor para o fator VII (FVII) da coagulação formando um complexo (FT-VIIa), desencadeando assim,

a ativação dos fatores IX (FIXa) e X (FXa) da cascata de coagulação resultando na formação de trombina, a qual converte fibrinogênio em fibrina e também colabora com a ativação e agregação plaquetária (COUGHLIN, 2000; DAHLBA, 2005; ESMON, 2005) ou através da ativação do fator XII (via intrínseca) que ocorre quando o sangue entra em contato com uma superfície contendo cargas elétricas negativas. Esse processo é denominado "ativação por contato" e requer ainda a presença de outros componentes do plasma: pré-caliceína (uma serinoprotease) e cininogênio de alto peso molecular (um cofator não enzimático). O fator XII ativado (FXIIa) ativa o fator XI (FXI) que, por sua vez, ativa o fator IX (FIX). O FIX ativado, na presença de fator VIII (FVIII) ativado por traços de trombina, e em presença de íons cálcio (complexo tenase), ativa o fator X (FX) da coagulação, desencadeando a geração de trombina e, subsequentemente, formação de fibrina (FERREIRA, et al., 2010).

A fibrinólise é o mecanismo relacionado a degradação da fibrina a partir da conversão do plasminogênio em plasmina pelos ativadores de plasminogênio dos tipos tecidual (tPA) e uroquinase (uPA) (GOEIJENBIER et al., 2012), resultando na formação dos produtos solúveis de degradação da fibrina (PDFs) como os dímeros D (SUZUKI; DISTANTE; EAGLE, 2010).

Recentemente, outro modelo para explicar a coagulação, baseado na permanência de substâncias procoagulantes ativadas nas superfícies celulares no sítio da lesão para a formação de tampão plaquetário e de fibrina foi desenvolvido. Foi realizada a divisão do processo de coagulação em três fases: iniciação, amplificação e propagação. A iniciação onde o FT se liga ao FVIIa formando o chamado complexo de iniciação, que ativa o FX em FXa, levando à geração de concentrações muito pequenas de trombina. Esta trombina é insuficiente para converter o fibrinogênio em fibrina. Na amplificação, a pequena quantidade de trombina gerada, é capaz de ativar as plaquetas, ativar o FXI, ativar os cofatores V e VIII nas superfícies das plaquetas ativadas aumentando assim a eficiência da ativação da coagulação. Na propagação, ocorre o recrutamento de grande quantidade de plaquetas e com grande produção dos complexos de tenase (FVIIIa/FIXa) e protombinase (FVa/FXa) resultando em quantidade suficiente de fibrina para a formação do coágulo (figura 1) (FERREIRA, et al., 2010).

Para evitar a coagulação excessiva e disseminada, o processo de coagulação deve ser regulado por proteínas anticoagulantes endógenas como o inibidor da via do fator tecidual (TFPI), proteína C (PC) dependente de vitamina K e a antitrombina (AT). O TFPI é ativado pela interação do FT-VIIa e inibe o FXa. O complexo TFPI-FXa formado inibe o FT-VIIa impedindo a amplificação da coagulação. A proteína C é ativada a partir da ligação da trombina a trombomodulina, favorecendo a clivagem dos FVa e FVIIIa diminuindo a produção de

trombina. A antitrombina é um antagonista natural da trombina que é ativada por substâncias semelhantes a heparina (DAHLBÄCK, 2003; FERREIRA, et al., 2010; KATO, 2002).

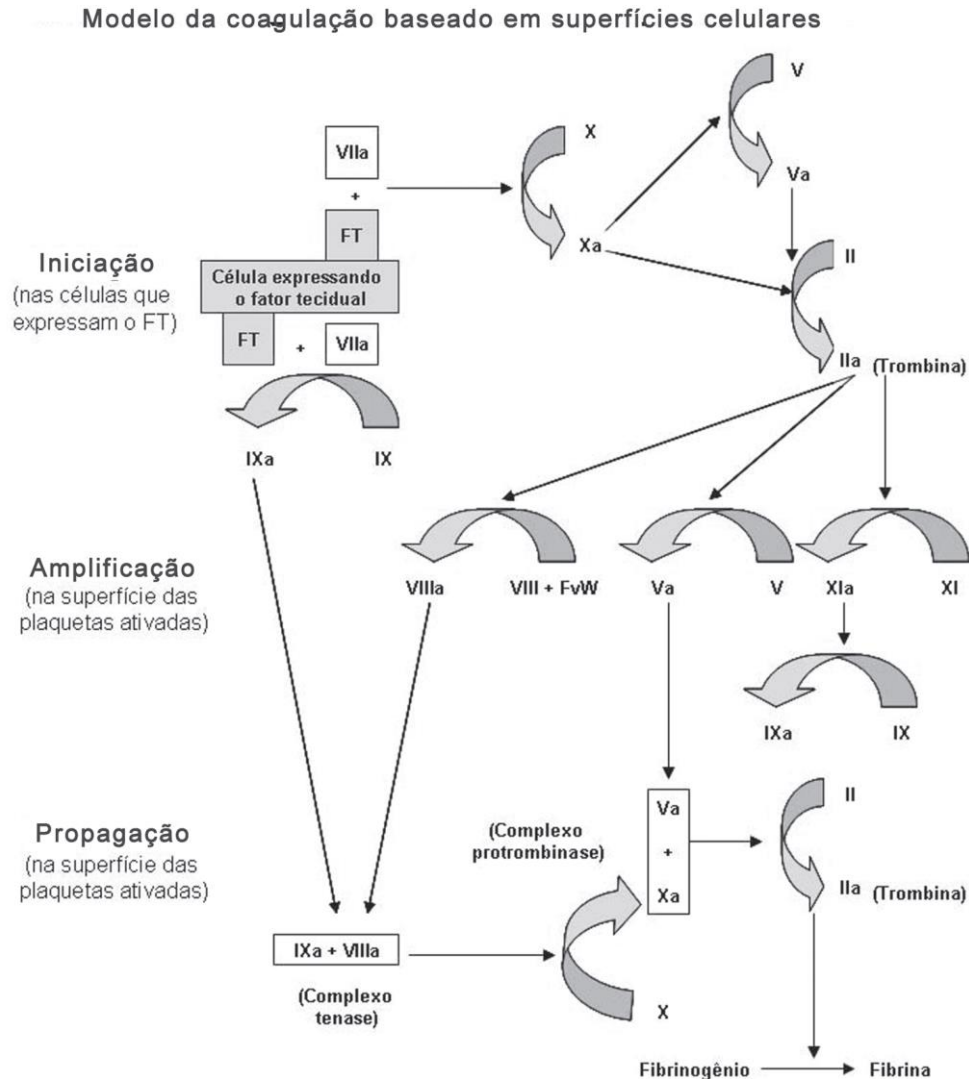


Figura 2: Modelo de coagulação baseado em superfícies celulares compreendendo as fases de iniciação, amplificação e propagação. Fator tecidual (FT), ativado (a). (FERREIRA et al., 2010).

2.5 Inflamação e coagulação sanguínea

A inflamação é uma resposta do organismo a invasão de patógenos ou a lesão tecidual caracterizada pelo acúmulo de leucócitos e proteínas plasmáticas com o objetivo de remover os agentes causadores dos danos e favorecer o processo de remodelamento tecidual.

O sistema imunológico inato é a primeira linha de defesa contra a invasão de patógenos e atua através do reconhecimento dos padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs)

pelos seus receptores de reconhecimento padrão (PRRs) estimulando a produção de citocinas, quimiocinas e outros mediadores inflamatórios (O'BRIEN, 2012)

O processo da coagulação sanguínea consiste na formação do coágulo de fibrina, através de interações complexas entre proteases plasmáticas e seus cofatores na tentativa de manter a integridade vascular (FRANCO, 2001). Em condições fisiológicas, os mecanismos anticoagulantes naturais fornecem proteção contra as complicações trombóticas, entretanto, mecanismos inflamatórios perturbam a hemostasia favorecendo a ativação da coagulação (ESMON, 2005).

A inflamação aumenta a concentração de fibrinogênio e esse aumento tem sido associado ao risco de desenvolvimento de doenças trombóticas. As citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-1, IL-8 e TNF- α aumentam a produção do fator de von Willebrand (BERNARDO et al., 2004), podendo resultar na ativação plaquetária e na expressão de FT em monócitos e células endoteliais (ESMON, 2005; LINDMARK; TENNO; SIEGBAHN, 2000). Além disso, o processo inflamatório contribui com o aumento da proteína C reativa que facilita as interações entre monócitos/células endoteliais e promove o inibidor do ativador de plasminogênio -1 (PAI-1) (DEVARAJ, S.; XU, D. Y; JIALAL, 2003).

Durante a formação de um coágulo, as plaquetas ativadas liberam mediadores como CXCL1, CXCL4, CXCL5, CXCL7, CCL3, CCL5, CCL7, CD40L e o ligante para o receptor de disparo expresso em células mielóides 1 (TREM-1). Ainda, devido a interação entre o CD40L das plaquetas com o CD40 de células endoteliais ou da liberação de CD40 solúvel, ocorre a indução da expressão das moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1, P-selectina, E-selectina, a liberação da citocina IL-6 e do fator tecidual. Assim, as plaquetas ativadas ajudam no recrutamento e nas funções efectoras de leucócitos e ativa a resposta inflamatória nos vasos (GAERTNER; MASSBERG, 2016; HASELMAYER et al., 2007; SEMPLE; JR; FREEDMAN, 2011).

A trombina desempenha um papel fundamental na estimulação da inflamação, ajuda no processo de clivagem das proteínas C3 e C5 do sistema complemento, estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias, do fator ativador de plaquetas (PAF), de óxido nítrico, a expressão de P-selectina no endotélio e em plaquetas que promove adesão e ativação de leucócitos. Os neutrófilos ativados liberam elastases que destroem a antitrombina e cliva o TPII dificultando o controle dos mecanismos de geração da trombina (LORANT et al., 1991; OPAL, 2003).

A antitrombina contribui para mecanismos anti-inflamatórios, possivelmente, devido a capacidade de inibir a adesão de células imunes na presença de prostaciclina e da baixa expressão de P-selectina (NEVIÈRE et al., 2001; YAMASHIRO et al., 2001).

Assim, os mediadores inflamatórios podem aumentar a reatividade plaquetária, regular negativamente os mecanismos anticoagulantes naturais, iniciar a ativação do sistema de coagulação, facilitar a propagação da resposta coagulante e prejudicar a fibrinólise. Da mesma forma, a coagulação pode aumentar a resposta inflamatória liberando mediadores de plaquetas e ativando células, promovendo interações célula-célula que aumentam as respostas inflamatórias (ESMON, 2005).

2.6 Infecções virais e a coagulação sanguínea

A ativação do sistema de coagulação durante infecções virais parece servir como um mecanismo de defesa do hospedeiro para impedir a disseminação dos patógenos através da interação entre esse sistema, leucócitos e plaquetas (ANTONIAK et al., 2014; GAERTNER; MASSBERG, 2016). Entretanto, essas infecções causam lesões endoteliais que podem alterar os sistemas de coagulação e o fibrinolítico resultando em quadros clínicos hemorrágicos ou trombóticos como a coagulação intravascular disseminada, a síndrome hemolítica-urêmica, púrpura trombocitopênica trombótica, vasculites e o tromboembolismo venoso (GOEIJENBIER et al., 2012; GORP et al., 1999).

A ativação da coagulação foi relacionada ao desenvolvimento de complicações clínicas em pacientes positivos para o HIV (FORD et al., 2010). Além disso, níveis elevados de IL-6 e dímero D foram preditivos de mortalidade e de risco de eventos trombóticos, incluindo o tromboembolismo venoso, durante a infecção por esse vírus (KULLER et al., 2008; MUSSELWHITE et al., 2011).

Durante as infecções pelos vírus *Influenza A* pode ocorrer tanto complicações hemorrágicas quanto trombóticas. Entre elas, destacam-se: a coagulação intravascular disseminada, trombose venosa profunda, embolismo pulmonar, hemorragia pulmonar com hemoptise (HARMS et al., 2010; YANG; TANG, 2016). Estudos em animais demonstraram que a infecção pelo vírus *Influenza A* aumenta a geração de trombina, a deposição de fibrina e a fibrinólise, assim como, os níveis de dímero D e do fator de von Willebrand. Entretanto, o nível reduzido de ADAMTS13 foi relatado em caso de um indivíduo com microangiopatia trombótica durante a fase aguda da infecção por H1N1 (GOEIJENBIER et al., 2014).

Na doença hemorrágica provocada pelo vírus *Dengue*, a excessiva fibrinólise está relacionada com o aumento da produção do tPA e ainda existe uma associação significativa entre os elevados níveis de IL-6 e de tPA na dengue hemorrágica que não há na doença febril da dengue onde os sintomas são mais leves (RACHMAN; RINALDI, 2006).

Recentemente, começaram a surgir os primeiros relatos sobre infecções com os ZIKV e CHIKV associados aos distúrbios da coagulação. Na maioria dos casos, os indivíduos apresentaram trombocitopenia grave com eventos hemorrágicos, entretanto, há descrições sobre púrpura trombocitopênica trombótica relacionada ao CHIKV (BIDAUD et al., 2017; CHAMMARD et al., 2017).

O primeiro caso de TVP associado ao CHIKV foi relatado em um paciente com 55 anos, ex-tabagista, que apresentou febre alta, astenia, artralgia nos joelhos, tornozelos e ombros, além de dor na panturrilha esquerda associada a edema bilateral de tornozelos sendo mais evidente à esquerda e com sorologia positiva para CHIKV. A trombose foi constatada através de um eco-Doppler colorido, com o trombo na veia poplítea direita e foi iniciado o tratamento com anticoagulante oral com duração de três meses. Contudo, após os 90 dias de tratamento, o paciente permaneceu com o edema volumoso nos membros inferiores e esse edema possuía características clinicamente compatíveis com um edema de origem linfática. Após a realização da linfocintilografia foram detectadas alterações no sistema linfático dos membros inferiores (MARQUES, et al., 2017; MARQUES; VON RISTOW, 2017).

2.7 Diagnóstico de tromboembolismo venoso e o dímero D

O tromboembolismo venoso (TEV) é caracterizado pelas condições clínicas de trombose venosa profunda (TVP) e tromboembolismo pulmonar (TEP). A TVP ocorre a partir da formação de um coágulo em veias profundas, principalmente nos membros inferiores, podendo acontecer também em membros superiores em apenas 10% dos casos de TVP (ENGELBERGER; KUCHER, 2012). O tromboembolismo pulmonar acontece quando um coágulo ou parte dele migra, por meio da circulação sanguínea, até o pulmão. A incidência global do TEV é estimada em 1 a 2 casos para cada 1000 pessoas por ano (WONG; BAGLIN, 2012; FOCUS, 2007).

Nos pacientes, a formação do coágulo leva ao bloqueio total ou parcial da circulação sanguínea e isso pode desencadear dor, inchaço, edema, descoloração ou eritema da área afetada (PATEL et al., 2017). A fisiopatologia do TEV está baseada na Tríade de Virchow que é composta por três fatores: a lesão vascular, a lentificação do fluxo sanguíneos (estase) e a hipercoagulabilidade sanguínea (BAGOT; ARYA, 2008) e existem alguns fatores clínicos que predisõem ao TEV (Quadro 2).

Idade	Desidratação	Síndrome nefrótica
Obesidade	TEV prévio	Doenças ateroscleróticas
Imobilidade prolongada	Insuficiência cardíaca congestiva	Tratamentos hormonais
Câncer e seu tratamento	Infecção aguda	Veias varicosas
Acidente vascular cerebral e paralisia	Gravidez e puerpério	Doenças reumatológicas

Quadro 2: Fatores clínicos de risco para o TEV. Extraído e adaptado (PATEL et al., 2017).

O diagnóstico do TEV geralmente começa com a avaliação da probabilidade clínica do paciente apresentar TVP ou TEP pelo escore de Wells (Quadro 3). Essa ferramenta de predição clínica é baseada nos principais sinais, sintomas e fatores de risco para o desenvolvimento dessas doenças, além da verificação de diagnósticos alternativos. Para cada item desse escore é atribuída uma pontuação específica e o somatório dessa pontuação sendo igual ou maior que dois, classifica o paciente como tendo uma moderada ou alta probabilidade para o desenvolvimento do TVP ou quando ocorre uma pontuação menor que dois, o paciente é classificado com uma baixa probabilidade de TVP (WELLS et al., 2003). A probabilidade será maior para esse pré-teste em casos com fatores de risco associados: câncer, cirurgia recente, imobilização ou se os sinais e sintomas forem típicos de TEV (GEERSING et al., 2012). Além disso, esse indicativo é utilizado para orientar a realização de mais testes, evitando o uso de exames complexos e de alto custo em pacientes com baixa probabilidade de TEV. Se o TEV for improvável ou de baixa probabilidade, será realizado o teste para quantificação do produto de degradação da fibrina, o dímero D.

Característica Clínica	Pontuação
Câncer ativo (paciente recebendo tratamento para câncer pelo menos há 6 meses ou atualmente recebendo tratamento paliativo)	1
Paralisia, paresia ou imobilização recente das extremidades	1
Imobilidade no leito por 3 dias ou mais, ou cirurgia de grande porte nas últimas 12 semanas com anestesia geral ou regional	1
Dor localizada ao longo do trajeto do sistema venoso profundo	1
Perna inteira edemaciada	1
Perna edemaciada, pelo menos 3 cm maior do que lado assintomático (medida realizada 10 cm abaixo da tuberosidade da tíbia)	1
Edema depressível na perna sintomática	1
Veias superficiais ectasiadas (não varicosas)	1
TVP previamente documentada	1
Diagnóstico alternativo pelo menos os parecidos com sintomas TVP	-2

Quadro 3: Escore de Wells. Modelo clínico para prever a probabilidade de pré-teste de trombose venosa profunda. Extraído e adaptado (WELLS et al., 2003).

O dímero D circula no plasma por aproximadamente 8 horas até que seja eliminado pelos rins ou por células do sistema reticuloendotelial. Como o dímero D só é formado a partir

da geração e degradação da fibrina, tornou-se importante marcador de ativação da coagulação e da fibrinólise, sendo também marcador indireto de processos trombóticos e rotineiramente, é utilizado em diagnósticos de trombose venosa profunda e tromboembolismo pulmonar (SUZUKI; DISTANTE; EAGLE, 2010).

O teste do dímero D é parte integrante para validação de algoritmos para o diagnóstico de TVP ou TEP e sua detecção é realizada por imunoensaios (ELISA). Os níveis elevados de dímeros D estão presentes na maioria dos pacientes com trombose aguda, entretanto, esses níveis também são aumentados com a idade avançada, após cirurgia, durante a gravidez, câncer e doenças inflamatórias crônicas. Portanto, dímero D é um sensível marcador para detecção de trombose, com sensibilidade de 96 % para TVP e de 95% para o TEP, mas com baixa especificidade (42%) (STEIN et al., 2004) .

Embora os valores de dímero D menores que 500 µg/L ajudem a excluir o diagnóstico de TEV, tendo um alto valor preditivo negativo (97%), a utilização do valor do dímero D é limitada em pacientes com alta probabilidade no pré-teste. Assim, os pacientes com alta probabilidade devem realizar diretamente exames ultrassonográficos ou uma tomografia computadorizada (Figura 3) (WEITZ; FREDENBURGH; EIKELBOOM, 2017).

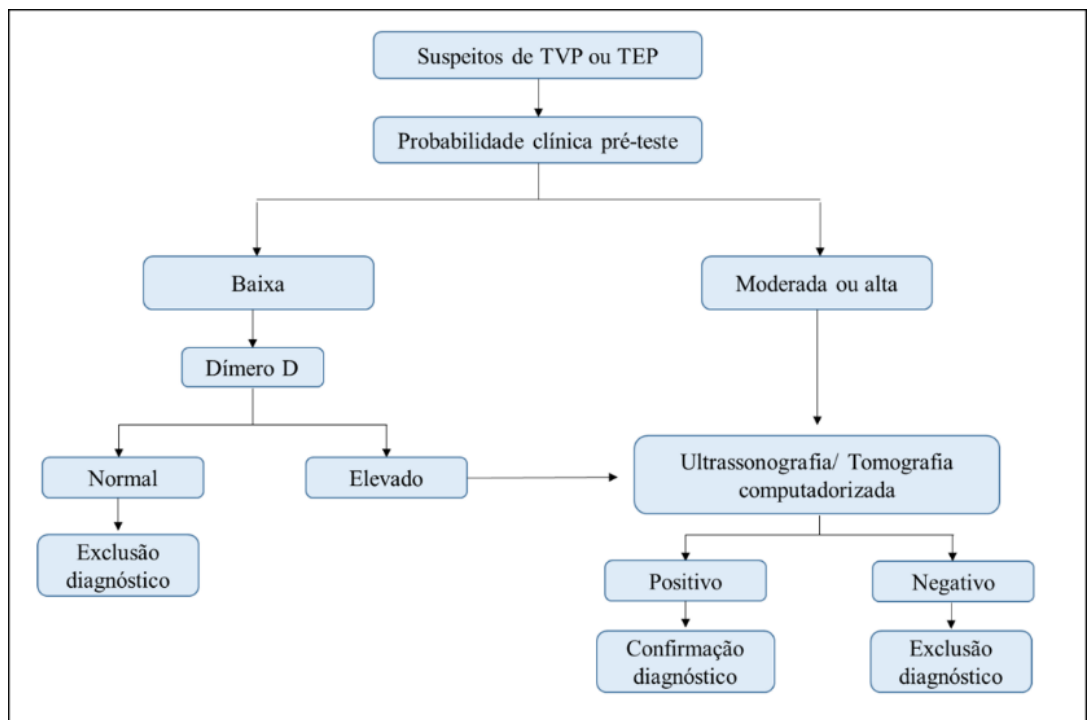


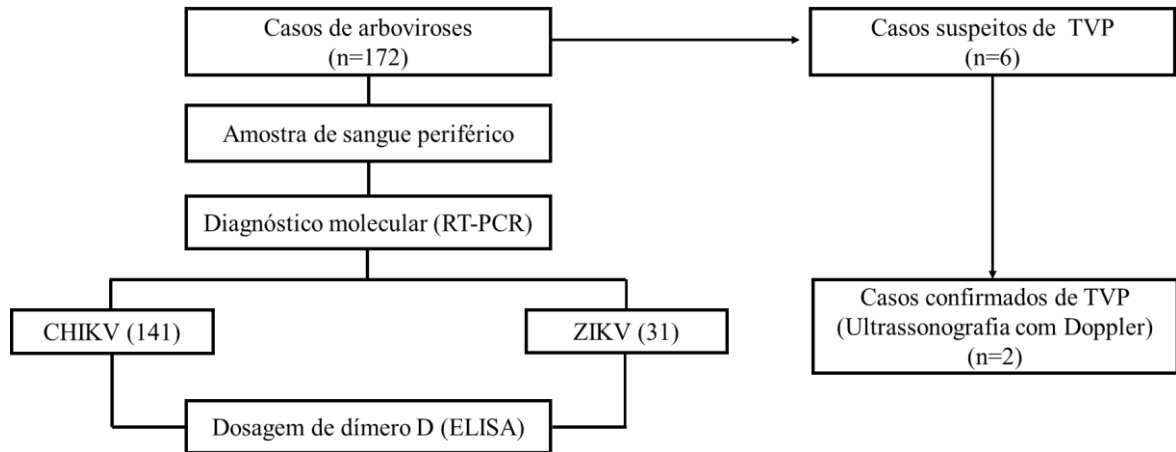
Figura 3: Algoritmo para diagnóstico de TVP ou TEP usando dímero D. Extraído e adaptado (WEITZ; FREDENBURGH; EIKELBOOM, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Descrever dois casos de indivíduos infectados pelo vírus *Zika* com trombose venosa profunda e avaliar os níveis séricos do dímero D em indivíduos infectados pelos vírus *Zika* e *Chikungunya*.

4 DESENHO DO ESTUDO (Estudo descritivo)



5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 População de estudo e aspectos éticos

Inicialmente, foram observados 6 casos com quadro clínico suspeito de trombose, sendo 2 deles confirmados de TVP associados ao ZIKV, sendo 1 caso no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (HU-UFS) e o outro no Hospital Universitário da Universidade Federal da Paraíba. Esses casos foram analisados e descritos. Além disso, foram utilizadas 172 amostras de plasmas, que estavam armazenadas no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do HU-UFS, de pacientes adultos e crianças com infecção por arbovírus (ZIKV e CHIKV), que se apresentaram em alguns dos serviços oferecidos pelos ambulatórios de doenças infecciosas, pediatria, clínica médica ou de outros serviços ofertados no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe.

Caso clínico suspeito de arbovirose foi definido como pacientes que apresentam febre, dores musculares, dores articulares, cefaleia, náuseas, exantema e linfadenopatia. Os diagnósticos desses pacientes foram realizados através da avaliação das características clínicas apresentadas e do exame laboratorial para detecção dos vírus.

Esse estudo incluiu seres humanos, seguiu as normas do CONEP e fez parte de um projeto mais amplo aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe intitulado “*Estudo epidemiológico, clínico e imunológico nas infecções pelos vírus Zika, Chikungunya e Dengue na patogênese de anomalias fetais e em doenças de indivíduos adultos*”, CAAE 54835916.2.0000.5546. Todos os indivíduos maiores de 18 anos e os pais ou responsáveis dos menores de 18 anos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE, após informações verbais dos pesquisadores sobre os procedimentos da pesquisa.

5.2 Coleta de dados

Foi elaborado um questionário para registrar informações referentes à identificação dos pacientes (nome, gênero, idade) e à sintomatologia clínica apresentada (febre, artralgia, exantema, conjuntivite, mialgia, dor retro-orbitária e linfadenopatia) (ANEXO B). Esse questionário foi preenchido durante a avaliação clínica de pessoas com suspeita de infecção por arbovírus acolhidas em algum dos serviços ofertados pelo Hospital Universitário de Sergipe,

principalmente, pelos ambulatórios de Infectologia e Reumatologia dessa unidade hospitalar. Dos 172 indivíduos analisados foram coletadas amostras biológicas, dados clínicos sobre as arboviroses e dados demográficos. Não foram realizadas coletas de informações clínicas relacionadas ao tromboembolismo venoso.

5.3 Coleta de material biológico

Foram coletados 5 mL de sangue em tubo contendo EDTA e 5 mL de sangue em tubos sem anticoagulantes de pacientes suspeitos de infecções por arbovírus. Esse material foi centrifugado a 3000 rpm por 10 min e estocados a -80°C para detecção dos vírus *Zika* e *Chikungunya* por RT-PCR em tempo real e dosagem do dímero D.

5.4 Diagnóstico molecular

5.4.1 Extração do RNA viral

A extração dos RNAs virais foi feita a partir de 140 µL de plasma ou soro utilizando o QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany) de acordo com as instruções do fabricante.

5.4.2 Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase

A transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real foi realizada utilizando o kit da Invitrogen, o SuperScript® III Platinum® (One-Step qRT-PCR System), a amplificação foi realizada utilizando o aparelho ABI 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) nas seguintes condições: para a transcrição reversa (RT) utilizou-se 1 ciclo a 50°C durante 15 minutos, para a inativação da RT e ativação da Taq Polimerase 1 ciclo a 95°C por 2 minutos, a desnaturação ocorreu em 40 ciclos a 95°C durante 15 segundos e 40 ciclos a 60°C por 30 segundos para anelamento/ extensão.

Em uma microplaca óptica de 96 poços (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) foram adicionados 2x Reaction Mix (12,5 µL), H₂O livre de nucleasse (5,5 µL), primer Forward (0,5 µL), Primer Reverse (0,5 µL), sonda 10µM (0,5 µL), SuperScript™ III RT/Platinum™ Taq

Mix (0,5 µL) e 5 µL de RNA extraído para cada poço. As sequências dos oligonucleotídeos utilizados para amplificação estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Sequências de oligonucleotídeos utilizadas para detecção dos vírus *Zika* e *Chikungunya*

Alvo	Nome	Sequência (5' → 3')
ZIKV	VZIK NS5 9271F	AARTACACATACCARAACAAAGTG GT
	VZIK NS5 9373R	TCCRCTCCCYCTYTGGTCTTG
	VZIK NS5 9304p	(LNA) FAM-CTYAGACCA+G+C+T+GAAR
CHIKV	VCHIK NS4 6856F	TCCTCCCTGTTGGACTTGATAGA
	VCHIK NS4 6981R	TTGACGAACAGAGTTAGGAACATACC
	VCHIK NS4 6919p	FAM-AGGTACGCGCTTCAAGTTCGGCG

Amostras com um número de limiar (CT) ≤ 38 foram consideradas positivas para infecções causadas pelos vírus *Zika* e *Chikungunya*.

5.5 Dosagem do dímero D

Os plasmas dos indivíduos com diagnóstico molecular positivo para os ZIKV e CHIKV foram congelados e enviados para o Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo, Brasil, através de parceria estabelecida com médicos dessa unidade hospitalar para análise de dímeros D. Os níveis de dímero D foram quantificados utilizando um ensaio de imunoabsorção ligado a enzima - ELISA (Hyphen BioMed; Andresy, France). As medidas de absorvância foram obtidas utilizando um leitor de placas ELISA SPECTRAmax PLUS (Molecular Devices; Sunnyvale, CA, EUA). A concentração de referência do dímero D foi inferior a 0,5 µg / mL de unidades equivalentes de fibrinogênio (FEU).

5.6 Análise estatística

Realizou-se uma análise descritiva e exploratória dos dados. As variáveis qualitativas (gênero, febre, artralgia, exantema, conjuntivite, mialgia, dor retro-orbitária e linfadenopatia) foram descritas como frequências simples (n) e relativas percentuais (%). As variáveis quantitativas foram apresentadas como média \pm desvio padrão.

Ainda, foi realizada a análise de sensibilidade pelo software G* Power 3.1.9.2 (Kiel Universität, Alemanha) entre as variáveis gênero, idade e valores séricos de dímero D, com intervalo de confiança de 95% e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6 RESULTADOS

6.1 Relato dos casos de trombose venosa profunda (TVP)

Caso 1: No início de janeiro de 2016, uma mulher, procedente do estado de Sergipe, brasileira, com 46 anos, não caucasiana, previamente hígida, apresentava febre alta ($> 39^{\circ}\text{C}$) há 3 dias, artralgia, artrite, erupção cutânea vermelha e com edema na extremidade do membro superior direito, sem cateter central de inserção periférica (PICC) ou infusão intravenosa (IV) no membro relatado (figura 4). Um duplex scan do membro superior revelou trombose da veia braquial direita. Ela foi tratada com heparina não fracionada seguida por antagonistas da vitamina K (AVK). O teste laboratorial de biologia molecular RT-PCR em tempo real confirmou a infecção pelo ZIKV.



Figura 4: Mulher de 46 anos, com infecção pelo ZIKV e com trombose venosa profunda.

Caso 2: Em fevereiro de 2016, uma mulher caucasiana de 53 anos de idade, oriunda do estado da Paraíba, brasileira, apresentou febre, astenia, cefaleia, e artralgia nos cotovelos, joelhos e ombros, com sintomatologia iniciada 5 dias antes ao comparecimento a unidade hospitalar. A artralgia aumentou de intensidade e seguiu acompanhada de dor na panturrilha esquerda e edema bilateral dos tornozelos, sendo mais intenso à esquerda (figura 5). O exame ultrassonográfico com Doppler colorido confirmou a trombose da veia poplítea esquerda. A paciente foi tratada com heparina de baixo peso molecular e terapia com AVK e teve uma recuperação completa. A amostra dela foi positiva para o ZIKV. Nenhum fator de risco adicional que possa predispor as pacientes para trombose foi registrado.



Figura 5: Uma mulher, caucasiana, 53 anos, com ZIKV e trombose venosa profunda do membro inferior esquerdo.

Além dos casos acima citados, amostras de sangue de outros 4 indivíduos com sintomatologia suspeita de tromboembolismo venoso foram coletadas. Os indivíduos apresentavam dores articulares e edema unilateral em membro inferior direito, contudo, não foi possível ser realizada a confirmação do tromboembolismo venoso com o exame ultrassonográfico com Doppler. Entretanto, a dosagem do dímero D foi elevada, acima do valor preconizado, nas amostras 2 e 4 (Tabela 2).

Tabela 2: Características clínicas de indivíduos com suspeita de tromboembolismo venoso.

Amostra	Idade	Gênero	RT-PCR	Dímero D ($\mu\text{g/mL}$)	Sintomas
1	41	F	CHIKV	0,380	Artralgia, edema unilateral na perna direita
2	55	F	ZIKV	3,080	Febre, artralgia e edema unilateral na perna direita
3	34	F	CHIKV	0,005	Artralgia, edema unilateral na perna direita
4	68	F	CHIKV	0,535	Artralgia, edema unilateral na perna direita

6.2 Características demográficas e clínicas dos pacientes com diagnósticos de ZIKV e CHIKV

Foram analisados dados de 172 indivíduos infectados pelos ZIKV e CHIKV, confirmados pela RT-PCR em tempo real, onde 31 (18,02%) indivíduos foram positivos para o ZIKV e 141 (81,98%) foram positivos para o CHIKV (Tabela 3). Nossa amostra foi composta por indivíduos que apresentaram faixa etária variando de 7 a 88 anos. A idade média dos indivíduos infectados com o ZIKV foi de $37,5 \pm 13,35$ anos e 64% desses indivíduos pertenciam ao gênero masculino. Nos pacientes acometidos pelo CHIKV, a idade média foi de $41,8 \pm 17,3$ anos com 86,8% dos indivíduos do gênero feminino.

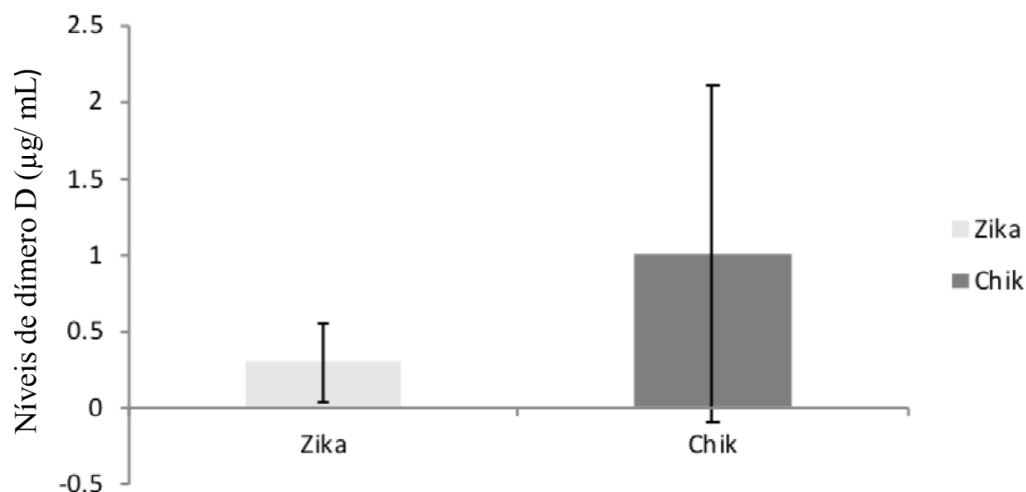
Os sintomas mais frequentes relatados pelos pacientes positivos para ZIKV foram febre (84,6%), artralgia (65,4 %) seguido de exantema (53,8%). Ainda, febre e artralgia também foram os sintomas mais citados entre os pacientes com amostras positivas para CHIKV.

Tabela 3: Características demográficas e clínicas de indivíduos infectados pelos ZIKV e CHIKV. A idade está representada pela média \pm desvio padrão.

Variáveis demográficas	Casos (RT-PCR)	
	ZIKV	CHIKV
n (%)	31 (18,02)	141 (81,98)
Idade	37,5 \pm 13,35	41,8 \pm 17,3
Gênero		
Masculino	20 (64)	19 (13,2)
Feminino	11 (36)	122 (86,8)
Sintomatologia		
Febre	26 (84,6)	121 (85,9)
Artralgia	20 (65,4)	121 (85,9)
Exantema	17 (53,8)	27 (19)
Conjuntivite	2 (7,7)	7 (4,9)
Mialgia	13 (42,3)	22 (15,7)
Dor retro-orbital	8 (26,9)	66 (47,1)
Linfadenopatia	6 (19,2)	6 (4,1)

6.3 Dosagem do dímero D

Para dosagem das concentrações séricas do dímero D, foram analisados plasmas de pacientes com ZIKV e CHIKV através de imunoensaio quantitativo (ELISA). Não houve diferença significativa das concentrações de dímero D entre os grupos ZIKV ($0,29 \pm 0,26$) e CHIKV ($1,01 \pm 1,10$). Entretanto, foi observado que houve aumento das concentrações de dímero D em relação ao valor de referência ($< 0,5 \mu\text{g/mL}$) em 19,4% das 31 amostras positivas para ZIKV e em 63,8% das amostras positivas para CHIKV (Figura 6).



Vírus	ZIKV	CHIKV
n	31	141
Média (µg/mL)	0,29	1,01
Desvio padrão (µg/mL)	0,26	1,102
Dímero D acima do limite de referência (%)	19,35	63,83

Figura 6: Níveis séricos de dímero D. Dados apresentados como média \pm desvio padrão em µg/mL de 31 amostras de plasmas de pacientes positivos para ZIKV e 141 amostras de plasmas de pacientes positivos para CHIKV. A concentração de referência de dímero D é menor do que 0,5 µg/mL de unidades equivalentes de fibrinogênio (FEU).

Diante do aumento da concentração do dímero D em amostras de pacientes infectados pelos ZIKV e CHIKV, foi realizada uma análise de sensibilidade para verificar se os fatores idade e gênero estariam influenciando na avaliação das concentrações do dímero D. A análise de sensibilidade demonstrou que tanto a idade (ZIKV: $p = 0,659$; CHIKV: $p = 0,405$) quanto o gênero (ZIKV: $p = 0,735$; CHIKV: $p = 0,826$) não foram variáveis significantes para os resultados.

7 DISCUSSÃO

As infecções virais causadas pelos ZIKV e CHIKV tornaram-se relevantes no cenário mundial através do desenvolvimento de complicações clínicas nos indivíduos infectados por esses vírus. Nesse estudo foram relatados dois casos de infecções pelo ZIKV associados a trombose venosa profunda.

Apesar do tromboembolismo venoso ser amplamente caracterizado na literatura, são escassas as publicações que associam essa condição clínica às infecções com os ZIKV e CHIKV. Marques et al. (2017) descreveram um caso de um indivíduo de 55 anos, infectado pelo CHIKV, onde o trombo foi detectado na veia poplítea direita através do exame eco-Doppler. Além disso, já foram constatados cinco casos de tromboembolismo venoso em pessoas durante a fase aguda da infecção pelo vírus da dengue (DA COSTA et al., 2012) e em conjunto, esses dados reforçam os nossos achados e contribuem como alerta para ocorrência desse quadro clínico em infecções por arbovírus.

Ainda, é importante destacar que em um dos casos descritos aqui, houve a confirmação de trombose venosa em membro superior, visto que a frequência da ocorrência de trombose venosa profunda em membro superior é considerada baixa, podendo ser aumentada devido a alguns fatores como o uso de cateteres, marca-passos ou doenças tumorais. Nos casos descritos em nosso estudo não houve fatores adicionais registrados que pudessem favorecer o desenvolvimento do tromboembolismo venoso, contudo, as infecções pelos ZIKV e CHIKV estão, muitas vezes, relacionadas a quadros clínicos com restrições graves de locomoção devido à poliartralgia ou a síndrome de Guillain-Barré e é possível que o tromboembolismo venoso seja uma consequência secundária causada pela infecção por esses vírus.

Quanto aos dados clínicos e epidemiológicos, o CHIKV foi o arbovírus mais prevalente entre os 172 indivíduos analisados. Esse dado é semelhante ao encontrado em boletins epidemiológicos elaborados no estado de Sergipe na mesma época (2015/2016) (SERGIPE, 2017), onde o número de casos notificados suspeitos por infecção pelo CHIKV foi superior ao número de casos suspeitos por infecção pelo ZIKV.

Além disso, houve predomínio do gênero feminino nos indivíduos infectados pelo CHIKV em contraste com a maioria dos indivíduos infectados pelo ZIKV que pertencem ao gênero masculino. Em outro estudo realizado em 2016, onde foram coletadas 142 amostras de pacientes com sintomatologias semelhantes as ocasionadas por infecções por arbovírus no estado de Sergipe, foi demonstrado a prevalência do CHIKV em 75,35% (107/142) das amostras analisadas e apesar de não haver diferença significativa entre as idades e sexos dos

indivíduos participantes, a maioria das amostras positivas para CHIKV eram de pacientes do sexo feminino 61,7% (66/107) (CUNHA et al., 2017). Entretanto, um estudo realizado no estado de Goiás, no mesmo período, com indivíduos infectados pelo ZIKV, foi demonstrado que a maioria dos acometidos pela infecção viral pertenciam ao gênero feminino (BARROS et al., 2018). Portanto, não há explicação lógica para a maior frequência da infecção por CHIKV no gênero feminino e por ZIKV no gênero masculino no presente estudo considerando que a disseminação viral ocorreu em uma população imunologicamente desprotegida.

Neste trabalho, as manifestações clínicas mais relatadas durante as arboviroses que afetaram os pacientes foram febre e artralgia. Corroborando esse resultado, Borgherini et al. (2007) descreveram os aspectos clínicos de 157 pacientes durante o surto de CHIKV ocorrido na Ilha de Reunião (território francês), demonstrando que a febre (96%) e a artralgia (89%) foram os sintomas mais frequentes, porém, em estudo realizado no Rio de Janeiro com 119 pacientes infectados pelo ZIKV, os sintomas mais comuns foram exantema (97%), seguido de prurido (79%) e prostração (73%) (BRASIL et al., 2016). Os sintomas clínicos apresentados pelos participantes do nosso estudo correspondem aos sinais clássicos das doenças, os quais estão presentes em várias pesquisas que avaliaram indivíduos infectados pelos ZIKV e CHIKV (DUFFY et al., 2009; TOGNARELLI et al., 2015). Infelizmente, não foi possível avaliar a sintomatologia relacionada ao tromboembolismo venoso, pois muitas amostras já haviam sido coletadas anteriormente ao aparecimento dos casos clínicos descritos.

O aumento da concentração de dímero D observado durante as infecções pelos ZIKV e CHIKV sugere que as vias da coagulação e fibrinolítica foram ativadas. Também já foi demonstrado em outras infecções virais, como durante a infecção pelo vírus *Ebola*, que as concentrações desse produto de degradação de fibrina foram encontradas dezesseis vezes mais elevadas em pessoas infectadas em comparação às pessoas não infectadas e que casos fatais apresentaram aumento de quatro vezes nessas concentrações em relação aos casos não fatais nessa população (ROLLIN; BAUSCH; SANCHEZ, 2007). Grund et al. (2016) apresentaram esse biomarcador como preditor de risco de doenças graves ou de morte em pacientes HIV positivos com supressão viral devido ao uso de terapia anti-retroviral. Além disso, níveis plasmáticos de dímero D foram independentemente associados a eventos tromboembólicos venosos em estudo retrospectivo do tipo caso-controle em pacientes infectados pelo HIV com e sem tromboembolismo venoso (MUSSELWHITE et al., 2011).

Embora a concentração do dímero D e a incidência de trombose venosa possam aumentar com a idade e o gênero, não foi observado influência desses fatores nas concentrações de dímero D das amostras por nós analisadas. Entretanto, não foi possível correlacionar as

concentrações de dímero D com eventos trombóticos mas é importante ressaltar que o valor do dímero D é melhor avaliado quando o resultado é negativo juntamente com a probabilidade baixa do pré-teste para o TEV, sugerindo assim a exclusão desse diagnóstico (WEITZ; FREDENBURGH; EIKELBOOM, 2017).

As evidências relatadas neste estudo permitiram a ampliação do conhecimento a respeito das complicações clínicas decorrentes das infecções pelos ZIKV e CHIKV, bem como descreveu pela primeira vez a quantificação do dímero D em indivíduos infectados por esses vírus. Assim, estes dados são relevantes para a comunidade científica e para os profissionais da área da saúde pois contribuem como um alerta para a possível associação entre infecções pelos ZIKV e CHIKV e o desenvolvimento do TEV. Ademais, este estudo pode auxiliar na criação de hipóteses que serão testadas em novos estudos, uma vez que a confirmação de TEV em alto percentual de pacientes infectados pelos ZIKV e CHIKV pode gerar subsídios para o tratamento profilático em casos de infecções agudas por esses vírus.

8 CONCLUSÃO

1. É possível que pessoas infectadas pelos ZIKV e CHIKV apresentem complicações clínicas como o tromboembolismo venoso.
2. Pessoas infectadas pelos vírus ZIKV e CHIKV podem apresentar concentrações de dímero D acima do valor de referência sugerindo a ativação das vias da coagulação e fibrinolítica.

9 PERSPECTIVAS

1. Realizar busca ativa de sinais e sintomas clínicos de tromboembolismo venoso e confirmação por métodos de imagens em novos casos na fase aguda de infecções pelos vírus *Zika* e *Chikungunya*.
2. Associar a sintomatologia com uma avaliação mais ampla da coagulação sanguínea em pacientes acometidos pelas infecções com os vírus *Zika* e *Chikungunya*.
3. Associar o dímero D com a dosagem de citocinas.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with dengue and chikungunya virus coinfection: case report during an epidemic period. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, n. April, p. 11–14, 2018.
- ANTONIAK, S. et al. Multiple roles of the coagulation protease cascade during virus infection Multiple Roles of the Coagulation Protease Cascade during. **Blood**, v. 123, p. 2605–2613, 2014.
- BAGOT, C. N.; ARYA, R. Virchow and his triad: A question of attribution. **British Journal of Haematology**, v. 143, n. 2, p. 180–190, 2008.
- BARROS, J. B. DE S. et al. Acute Zika virus infection in an endemic area shows modest proinflammatory systemic immunoactivation and cytokine-symptom associations. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. MAY, p. 1–11, 2018.
- BARZON, L. Ongoing and emerging arbovirus threats in Europe. **Journal of Clinical Virology**, v. 107, p. 38–47, 2018.
- BERNARDO, A. et al. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell – derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. **Blood**, v. 104, n. 1, p. 100–106, 2004.
- BIDAUD, B. et al. Fatal case of chikungunya and concomitant thrombotic thrombocytopenic purpura in French Guiana during air flight medical evacuation. **Journal of Travel Medicine**, v. 24, n. 5, p. 1–3, 2017.
- BORGHERINI, G. et al. Outbreak of Chikungunya on Reunion Island: Early Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 11, p. 1401–1407, 2007.
- BRASIL, P. et al. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1–13, 2016.
- BURKE, R. M. et al. Zika virus infection during pregnancy: What, where, and why? **British Journal of General Practice**, v. 66, n. 644, p. 122–123, 2016.
- CASTRO, J. S. et al. Cases Chikungunya fever : Atypical and lethal cases in the Western hemisphere A Venezuelan experience. **IDCases**, v. 2, p. 6–10, 2015.
- CHAMMARD, T. B; SCHEPERS, K; BREUREC, S; MESSIAEN, T; DESTREM; A; MAHEVAS, M; SOULILLOU, A; JANAUD, L; CURLIER, ELODIE; HERMANN-STORCK, C; HOEN, B. Severe Thrombocytopenia after Zika Virus , Guadeloupe, 2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 4, p. 696–698, 2017.
- CLETON, N. et al. Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers. **Journal of Clinical Virology**, v. 55, n. 3, p. 191–203, 2012.

COUGHLIN, S. R. Thrombin signalling and protease-activated receptors. **Nature**, v. 407, n. 6801, p. 258–264, 2000.

CUNHA, M. DOS P. et al. Outbreak of chikungunya virus in a vulnerable population of Sergipe, Brazil—A molecular and serological survey. **Journal of Clinical Virology**, v. 97, n. July, p. 44–49, 2017.

DA COSTA, P. S. G. et al. Short report: Severe thrombotic events associated with dengue fever, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 4, p. 741–742, 2012.

DAGINAWALA, H. et al. Neurological complications of Chikungunya virus infection. **Neurology India**, v. 57, n. 2, p. 177, 2009.

DAHLBÄCK, B. Progress in the Understanding of the Protein C Anticoagulant Pathway. **International Journal of Hematology**, v. 79, n. 2, p. 109–116, 2003.

DEVARAJ, S.; XU, D. Y; JIALAL, I. C-Reactive Protein Increases Plasminogen Activator Inhibitor-1 Expression and Activity in Human Aortic. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 398–404, 2003.

DIAS, P. J.; GOPAL, S. Refractory thrombotic thrombocytopenic purpura following influenza vaccination. **Anaesthesia**, v. 64, p. 444–446, 2009.

DUFFY, M. R. et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **The New England Journal of Medicine**, v. 360, p. 2536–2543, 2009.

ENGELBERGER, R. P.; KUCHER, N. Management of deep vein thrombosis of the upper extremity. **Circulation**, v. 126, n. 6, p. 768–773, 2012.

ESMON, C. T. The interactions between inflammation and coagulation. **British Journal of Haematology**, v. 131, p. 417–430, 2005.

FAYE, O. et al. Molecular Evolution of Zika Virus during Its Emergence in the 20th Century. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 1, p. e2636, 2014.

FERREIRA, C. N; SOUSA, M. DE O; DUSSE, L. M. S; CARVALHO, M. DAS G. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 5, p. 416–421, 2010.

FOCUS, I. N. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, p. 692–699, 2007.

FOLEY, J. H.; CONWAY, E. M. Cross Talk Pathways Between Coagulation and Inflammation. **Circulation Research Compendium on Thrombosis**, v. 118, p. 1392–1409, 2016.

FORD, E. S. et al. Traditional risk factors and D-dimer predict incident cardiovascular disease events in chronic HIV infection. **AIDS**, v. 24, n. 10, p. 1509–1517, 2010.

FORSHEY, B. M. et al. Arboviral Etiologies of Acute Febrile Illnesses in Western South

America , 2000 – 2007. v. 4, n. 8, p. 2000–2007, 2010.

FRANÇA, G. V. A. et al. Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. **The Lancet**, v. 388, n. 10047, p. 891–897, 2016.

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 34, p. 229–237, 2001.

FUKUJIMA, M. M. et al. Tromboembolismo venoso: profilaxia em pacientes clínicos – Parte III. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 55, p. 372–377, 2009.

GAERTNER, F.; MASSBERG, S. Blood coagulation in immunothrombosis—At the frontline of intravascular immunity. **Seminars in Immunology**, v. 28, n. 6, p. 561–569, 2016.

GEERSING, G. J. et al. Safe exclusion of pulmonary embolism using the Wells rule and qualitative D-dimer testing in Primary care: Prospective cohort study. **BMJ**, v. 345, n. e6564, 2012.

GOEIJENBIER, M. et al. Review : Viral Infections and Mechanisms of Thrombosis and Bleeding. **Journal of Medical Virology**, v. 84, p. 1680–1696, 2012.

GOEIJENBIER, M. et al. Activation of coagulation and tissue fibrin deposition in experimental influenza in ferrets Activation of coagulation and tissue fibrin deposition in experimental influenza in ferrets. **BMC microbiology**, v. 14, n. 1, 2014.

GORP, E. C. M. VAN et al. Review : Infectious Diseases and Coagulation Disorders. **The Journal of Infectious Disease**, v. 180, n. 1, p. 176–186, 1999.

GRUND, B. et al. Relevance of interleukin-6 and D-dimer for serious non-AIDS morbidity and death among HIV-positive adults on suppressive antiretroviral therapy. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 1–16, 2016.

HARMS, P. W. et al. Autopsy Findings in Eight Patients With Fatal H1N1 Influenza. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 134, n. 1, p. 27–35, 2010.

HARPER, P. L. et al. D-dimer concentration increases with age reducing the clinical value of the D-dimer assay in the elderly. **Internal Medicine Journal**, v. 37, n. 9, p. 607–613, 2007.

HASELMAYER, P. et al. TREM-1 ligand expression on platelets enhances neutrophil activation. **BLOOD**, v. 110, n. 3, p. 1029–1036, [s.d.].

HEIT, J. A. The Epidemiology of Venous Thromboembolism in the Community. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 28, n. 3, p. 370–372, 2008.

KARIMI, O. et al. Thrombocytopenia and subcutaneous bleedings in a patient with Zika. **The Lancet**, v. 387, n. 10022, p. 939–940, 2016.

KATO, H. Regulation of Functions of Vascular Wall Cells by Tissue Factor Pathway Inhibitor. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular biology**, v. 22, n. 4, p. 539–548, 2002.

KEESEN, T. S. L. et al. Guillain-Barré syndrome and arboviral infection in Brazil. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 7, p. 693–694, 2017.

KHOURY, V. J.; CAMILO, P. R. Chikungunya virus (CHIKV): What can be expected after the acute phase ? **Reumatología clínica (English Edition)**, v. 12, n. 1, p. 1–3, 2016.

KULLER, L. H. et al. Inflammatory and Coagulation Biomarkers and Mortality in Patients with HIV Infection. **PLoS Medicine**, v. 5, n. 10, p. 1496–1508, 2008.

LIMA-CAMARA, T. N. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. 0, p. 1–7, 2016.

LINDMARK, E.; TENNO, T.; SIEGBAHN, A. Role of Platelet P-Selectin and CD40 Ligand in the Induction of Monocytic Tissue Factor Expression. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular biology**, v. 20, n. 10, p. 2322–2328, 2000.

LOPES, R. Viral-associated thrombotic microangiopathies. **Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy**, v. 4, n. 2, p. 51–59, 2011.

LORANT, D. E. et al. Juxtacrine System for Adhesion and Activation of Neutrophils Coexpression of GMP-140 and PAF by Endothelium Stimulated by Histamine or Thrombin : A Juxtacrine System for Adhesion and Activation of Neutrophils. **Journal of Cell Biology**, v. 115, n. 1, p. 223–234, 1991.

LUCCHESI, G.; KANDUC, D. Zika virus and autoimmunity: From microcephaly to Guillain-Barré syndrome, and beyond. **Autoimmunity Reviews**, v. 15, n. 8, p. 801–808, 2016.

MALAK, S. et al. Human Immunodeficiency Virus-Associated Thrombotic Microangiopathies : Clinical Characteristics and Outcome According to ADAMTS13 Activity. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 68, p. 337–344, 2008.

MANSFIELD, K. L. et al. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. **Journal of General Virology**, v. 92, n. 12, p. 2821–2829, 2011.

MARQUES, A.M; DE SÁ, F. P. A; LUPI, O; BRASIL, P; VON RISTOW, A. Trombose venosa profunda e vírus chikungunya. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 16, n. 1, p. 60–62, 2017.

MARTINA, B. E. et al. Human to human transmission of arthropod-borne pathogens. **Current Opinion in Virology**, v. 22, p. 13–21, 2017.

MOREIRA, J. et al. Sexually acquired Zika virus: a systematic review. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 5, p. 296–305, 2017.

MOTA, M. et al. Mosquito-transmitted viruses – the great Brazilian challenge. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 38–50, 2016.

MUSSELWHITE, L. W. et al. Markers of endothelial dysfunction , coagulation and tissue fibrosis independently predict venous thromboembolism in HIV. **AIDS**, v. 25, n. 6, p. 787–795, 2011.

NAYAR, S. K. et al. Co-infection of dengue virus and chikungunya virus in two patients with acute febrile illness. **Med J Malaysia**, v. 62, n. 4, p. 335–336, 2007.

NEVIÈRE, R; TOURNOYS, A; MORDON, S; MARÉCHAL, X; SONG, F. L; JOURDAIN, M; FURRIER, F. Antithrombin reduces mesenteric venular leukocyte interactions and small intestine injury in endotoxemic rats. **Shock**, v. 15, n. 3, p. 220–225, 2001.

NUNES, M. R. T. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **BMC Medicine**, v. 13, n. 1, 2015.

O'BRIEN, M. The Reciprocal Relationship Between Inflammation and Coagulation. **Topics in Companion Animal medicine**, v. 27, n. 2, p. 46–52, 2012.

OPAL, S. M. Interactions between Coagulation and Inflammation. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 35, p. 545–554, 2003.

PATEL, K. et al. Pathogenesis and epidemiology of venous thromboembolic disease. **Critical Care Nursing Quarterly**, v. 40, n. 3, p. 191–200, 2017.

PETERSEN, L. R. et al. Zika Virus. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 16, p. 1552–1563, 2016.

PHOMMANIVONG, V. et al. Co-circulation of the dengue with chikungunya virus during the 2013 outbreak in the southern part of Lao PDR. **Tropical Medicine and Health**, v. 44, n. 1, p. 1–10, 2016.

PINGEN, M. et al. Mosquito Biting Modulates Skin Response to Virus Infection. **Immunity**, v. 44, n. 6, p. 1455–1469, 2016.

PRATA-BARBOSA, A. et al. Co-infection with Zika and Chikungunya viruses associated with fetal death—A case report. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 72, p. 25–27, 2018.

PRIYAMVADA, L. et al. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 28, p. 7852–7857, 2016.

RACHMAN, A.; RINALDI, I. Coagulopathy in dengue infection and the role of interleukin-6. **Acta Med Indones**, v. 38, n. 2, p. 105–108, 2006.

REZENDE, S. M. Distúrbios da hemostasia : doenças hemorrágicas. **Rev Med Minas Gerais**, v. 20, n. 4, p. 534–553, 2010.

ROLLIN, P. E.; BAUSCH, D. G.; SANCHEZ, A. Blood Chemistry Measurements and D-Dimer Levels Associated with Fatal and Nonfatal Outcomes in Humans Infected with Sudan Ebola Virus. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. s2, p. S364–S371, 2007.

ROSSI, F. C. et al. A novel association of acquired ADAMTS13 inhibitor and acute dengue virus infection. **TRANSFUSION**, v. 50, n. January, p. 208–212, 2010.

- RUST, R. S. Human Arboviral Encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130–151, 2012.
- SARMIENTO-OSPINA, A. et al. Zika virus associated deaths in Colombia. **The Lancet**, v. 16, n. 5, p. 523–524, 2016.
- SCHMID, M. A. et al. Mosquito Saliva Increases Endothelial Permeability in the Skin , Immune Cell Migration , and Dengue Pathogenesis during Antibody-Dependent Enhancement. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 6, p. 1–25, 2016.
- SCHWARTZ, O.; ALBERT, M. L. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 491–500, 2010.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Febre pelo vírus Zika: uma revisão narrativa sobre a doença. **Boletim Epidemiológico**, v. 46, n. 26, p. 1–7, 2015.
- SEMPLE, J. W.; JR, J. E. I.; FREEDMAN, J. Platelets and the immune continuum. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. April, p. 264–174, 2011.
- SERGIPE, S. DE E. DA S. D. DE P. N. E. (NEST. S. Arboviroses Em Sergipe, 2015-2016. **Boletim Epidemiológico**, p. 1–16, 2017.
- SHARP, T. M. et al. Severe Thrombocytopenia after Zika Virus Infection, Guadeloupe, 2016. **Clinical Infectious Diseases**, p. 1–11, 2016.
- STAPLES, J. E.; BREIMAN, R. F.; POWERS, A. M. Chikungunya Fever: An Epidemiological Review of a Re-Emerging Infectious Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 6, p. 942–948, 2009.
- STEIN, P.D; HULL, R.D; PATEL, K.C; OLSON, R.E; GHALI, W.A; BRANT, R; BIEL, R. K; BHARRADIA, V; KALRA, N. K. D-Dimer for the Exclusion of Acute Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 8, p. 589–607, 2004.
- STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. G. The alphaviruses: gene expression, replication, and evolution. **Microbiological reviews**, v. 58, n. 3, p. 491–562, 1994.
- SUZUKI, T.; DISTANTE, A.; EAGLE, K. Biomarker-assisted diagnosis of acute aortic dissection : how far we have come and what to expect. **Current Opinion in Cardiology**, v. 25, n. 6, p. 541–545, 2010.
- TOGNARELLI, J; ULLOA, S; VILLAGRA, E; LAGOS, J, AGUAYO, C; FASCE, R. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island , South Pacific , 2014. 2015.
- WAGGONER, J. J. et al. Viremia and Clinical Presentation in Nicaraguan Patients Infected With Zika Virus, Chikungunya Virus, and Dengue Virus. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 63, n. 12, p. 1584–1590, 2016.
- WAHID, B. et al. Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 58, p. 69–76, 2017.

WEITZ, J. I.; FREDENBURGH, J. C.; EIKELBOOM, J. W. A Test in Context: D-Dimer. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 19, p. 2411–2420, 2017.

WELLS, P. S. et al. Evaluation of D-Dimer in the Diagnosis of Suspected Deep-Vein Thrombosis. **New England Journal of Medicine**, v. 349, n. 13, p. 1227–1235, 2003.

WILLISON, H. J.; JACOBS, B. C.; VAN DOORN, P. A. Guillain-Barré syndrome. **The Lancet**, v. 388, n. 10045, p. 717–727, 2016.

WONG, P.; BAGLIN, T. Epidemiology , risk factors and sequelae of venous thromboembolism. **Phlebology**, p. 2–11, 2012.

WU, Y. et al. A unique case of human Zika virus infection in association with severe liver injury and coagulation disorders. **Scientific Reports**, v. 7, n. June, p. 1–8, 2017.

YAMASHIRO, K. et al. Inhibitory Effects of Antithrombin III against Leukocyte Rolling and Infiltration during Endotoxin-Induced Uveitis in Rats. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 42, n. 7, p. 1553–1560, 2001.

YANG, Y.; TANG, H. Aberrant coagulation causes a hyper-inflammatory response in severe influenza pneumonia. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 13, n. 4, p. 432–442, 2016.

ZEA-VERA, A. F.; PARRA, B. Zika virus (ZIKV) infection related with immune thrombocytopenic purpura (ITP) exacerbation and antinuclear antibody positivity. **Lupus**, v. 26, p. 890–892, 2016.

ANEXO A

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo epidemiológico, clínico e imunológico nas infecções pelos vírus Zika, Chikungunya e Dengue na patogênese de anomalias fetais e em doenças de indivíduos adultos

Pesquisador: Roque Pacheco de Almeida

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 54835916.2.0000.5546

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.486.302

Apresentação do Projeto:

Os pesquisadores pretendem avaliar a cepa de Zika vírus circulante no estado de Sergipe, possíveis mecanismos imunológicos e genéticos envolvidos na fisiopatologia das doenças associadas com a infecção. Para isso irão estabelecer algumas estratégias. Objetivo 1: Detectar, isolar e analisar Zika vírus e variantes deste em população de Aracaju e de Sergipe. Pacientes adultos e crianças com suspeita de infecções pelo vírus Zika, 10 ml de sangue serão coletados e para pesquisa do vírus por metodologia de PCR em tempo real, metodologia que já está disponibilizada no Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Universitário. Objetivo 2: Desenvolver métodos diagnósticos específicos para Zika vírus. Soros dos pacientes com pCR + serão guardados a -70°C para posterior estudo de sensibilidade e especificidade, utilizando novos kits diagnósticos que surgirão no mercado. Objetivo 3: Avaliar Co-infecções entre Zika, Chikungunya e Dengue e seus efeitos no desfecho destas doenças. Plasma dos pacientes com suspeita clínica de arboviroses serão coletados e submetidos a reação de PCR em tempo real para amplificação de sequência de DNA específica para cada vírus, Zika, chikungunya ou dengue. Objetivo 4: Avaliar a relação causal entre Zika vírus e microcefalia e Guillain-Barré. Serão avaliados por PCR, ou sorologia quando estiver disponível, a

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)2105-1805

CEP: 49.060-110

E-mail: cephu@ufs.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



Continuação do Parecer: 1.486.302

presença de zika vírus em mulheres grávidas que apresentem sintomatologia clínica. Para esta finalidade, 10 ml de sangue serão coletados de cada indivíduo para realização do PCR. Todas as grávidas serão acompanhadas para os exames de pré-natal no ambulatório de obstetrícia do Hospital Universitário, assim como seus filhos, caso apresentem microcefalia. Objetivo 5 Realizar estudos para avaliar a resposta imunológica humoral e celular contra os arbovírus circulantes em Sergipe e implicações na fisiopatologia das doenças a eles associadas e isolamento de RNA para analisar a expressão de citocinas pelas células.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a cepa de Zika vírus circulante no estado de Sergipe, possíveis mecanismos imunológicos e genéticos envolvidos na fisiopatologia das doenças associadas com a infecção.

Objetivo Secundário:

1. Detectar, isolar e analisar Zika vírus e variantes deste em população de Aracaju e de Sergipe 2. Desenvolver métodos diagnósticos específicos para Zika vírus 3. Avaliar Coinfecções entre Zika, Chikungunya e Dengue e seus efeitos no desfecho destas doenças. 4. Avaliar a relação causal entre Zika vírus e microcefalia e Guillain-Barré. 5. Realizar estudos para avaliar a resposta imunológica humoral e celular contra os arbovírus circulantes em Sergipe e implicações na fisiopatologia das doenças a eles associadas e isolamento de RNA para analisar a expressão de citocinas pelas células. 6. Avaliar polimorfismo genéticos de citocinas de mães e filhos que tiveram ou não manifestações clínicas da infecção puerperal pelo Zika vírus. 7. Elucidar a relação causal do vírus Zika e síndromes trombóticas / hemorrágicas; Analisar potenciais biomarcadores para a prática clínica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco: não será realizada intervenção, somente coleta de sangue.

Benefícios: entender a fisiopatologia da doença e tratar de forma adequada os pacientes. Diagnosticar precocemente as crianças com microcefalia e encaminhá-las para tratamento precoce, como recomendado pelo ministério da saúde. Identificar teste sorológico com boa especificidade e sensibilidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa extremamente relevante, inclusive para o momento atual em que já estabeleceu uma

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)2105-1805

CEP: 49.060-110

E-mail: cephu@ufs.br

**HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-**



Continuação do Parecer: 1.486.302

epidemia causada pelo vírus Zika no Brasil

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória adequados

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovação

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_692063.pdf	05/04/2016 10:50:24		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto_Zika.pdf	05/04/2016 10:49:20	Roque Pacheco de Almeida	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Zika_virus.pdf	05/04/2016 00:13:44	Roque Pacheco de Almeida	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Zika.pdf	05/04/2016 00:10:51	Roque Pacheco de Almeida	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

ARACAJU, 07 de Abril de 2016

Assinado por:
Anita Hermínia Oliveira Souza
(Coordenador)

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)2105-1805

E-mail: cephu@ufs.br

ANEXO B
QUESTIONÁRIO ARBOVIROSES

DATA: ____/____/____

Nome do paciente: _____

Data de nascimento: ____/____/____ **Idade:** _____ **Sexo:** _____

Endereço: _____

Município: _____

Telefone: _____

Cartão do SUS: _____

Sintomatologia:

Sintomas	Presente	Ausente	Duração dos sintomas (dias)
Febre			
Artralgia			
Exantema			
Conjuntivite			
Mialgia			
Dor retro-orbitária			
Linfadenopatia			

Se usa ou usou algum medicamento?

Sim () Não ()

Foram específicos para os sintomas da doença?

Sim () Não ()

Quais medicamentos:

Anticoncepcional () Anti-histaminico () Anti-inflamatório ()

Analgésico () Antitérmico () Anti-hipertensivo ()

Anti-diabéticos orais () Outros ()

Se outros, especificar: _____

Tem algum tipo de alergia?

() Rinite () Asma () Dermatite () Urticária () Não

Outros () Se outros, especificar: _____

Tem alergia a medicamentos?

Sim () Não ()

Se sim, especificar: _____

ANEXO C

ARTIGO



Original Article

Zika and Chikungunya Virus and Risk for Venous Thromboembolism

Eduardo Ramacciotti, MD, PhD¹, Leandro B. Agati, PhD¹, Valéria C. R. Aguiar, MD¹, Nelson Wolosker, MD, PhD², João C. Guerra, MD, PhD², Roque P. de Almeida, MD, PhD³, Juliana Cardoso Alves, MD³, Renato D. Lopes, MD, PhD⁴, Thomas W. Wakefield, MD⁵, Anthony J. Comerota, MD⁶, Jeanine Walenga, PhD⁷, and Jawed Fareed, PhD⁷

Clinical and Applied
Thrombosis/Hemostasis
Volume 25: 1-5
© The Author(s) 2019
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/1076029618821184
journals.sagepub.com/home/cat



Abstract

A variety of viral infections are associated with hypercoagulable states and may be linked to the development of deep venous thrombosis and pulmonary embolism. The Zika and Chikungunya viral infections spread through the South and Central American continents, moving to North America in 2016, with severe cases of polyarthralgia, fever, and Guillain-Barré syndrome leading eventually to death. A decreased trend for both infections was reported in the first quarter of 2017. In this article, we report the possible association of venous thromboembolic events associated with Zika infection. After 2 cases of deep venous thrombosis in patients with acute Zika infections, D-dimer levels were measured in 172 consecutive patients who presented to the emergency department of a university hospital in an endemic region of Brazil with either Zika or Chikungunya infections confirmed by polymerase chain reaction tests. D-dimer levels were increased in 19.4% of 31 patients with Zika and in 63.8% of 141 patients with Chikungunya infections. The mechanisms behind this association are yet to be elucidated as well as the potential for venous thromboembolism prevention strategies for in-hospital patients affected by Zika and Chikungunya infections.

Keywords

Zika virus, Chikungunya virus, deep venous thrombosis

Date received: 10 September 2018; revised: 17 November 2018; accepted: 21 November 2018.

Introduction

Zika and Chikungunya virus infections are transmitted by various species of aedes mosquitoes, both resulting in an outbreak of cases (Zika in 2014 and Chikungunya in 2015), with peaks in 2016 and a decrease of new cases in 2017. Fever, headache, arthralgia, myalgia, and maculopapular rash are symptoms common for both diseases and other viruses, such as dengue.¹ Although for Zika-infected patients the disease is self-limiting, cases of neurologic manifestations and the Guillain-Barré syndrome were described in Brazil during Zika virus epidemics.² An association between Zika infection in pregnant women and newborn microcephaly have also been reported.³⁻⁵ As for Chikungunya, in association with the rash and febrile syndrome, muscular and joint pain as well as intense asthenia with chronic leg pain have also been reported.⁶

During the outbreak of Zika infection, a fair number of young patients suspicious of the virus presented to the

emergency department with unusual edema of upper or lower limbs. Initially, this was imputed to the systemic inflammation associated with such viruses. However, in some patients, the extremity edema took a longer time to recover. Reports of high

¹ Hospital e Maternidade Dr. Christovão da Gama, Santo André, São Paulo, Brazil

² Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

³ Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE, Brazil

⁴ Duke University Hospital, Duke Clinical, Durham, NC, USA

⁵ Michigan Medicine, Cardiovascular Center, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

⁶ Mercy St. Vincent Medical Center, Toledo, OH, USA

⁷ Loyola University Medical Center, Maywood, IL, USA

Corresponding Author:

Eduardo Ramacciotti, Hospital e Maternidade Dr Christovão da Gama, Santo André, SP, Brazil.

Email: eduardoramacciotti@gmail.com



Creative Commons Non Commercial CC BY-NC: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 License (<http://www.creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits non-commercial use, reproduction and distribution of the work without further permission provided the original work is attributed as specified on the SAGE and Open Access pages (<https://us.sagepub.com/en-us/nam/open-access-at-sage>).